

EXTERNAL PREPARATION**Publication number:** JP7233046**Publication date:** 1995-09-05**Inventor:** KAMEYAMA HISAMI; MASUNAGA TAKUJI; RYU AKIYOSHI**Applicant:** KOSE CORP**Classification:**

- international: A61K8/19; A61K8/00; A61K8/30; A61K8/49; A61K8/60; A61K8/67; A61K31/035; A61K31/047; A61K31/07; A61K31/12; A61K31/135; A61K31/195; A61K31/22; A61K31/23; A61K31/35; A61K31/355; A61K31/375; A61K31/40; A61K31/405; A61K31/415; A61K31/445; A61K31/47; A61K31/555; A61K31/575; A61K31/59; A61K38/44; A61Q1/00; A61Q1/12; A61Q17/04; A61Q19/00; A61Q19/02; A61Q19/08; A61K38/44; A61K8/19; A61K8/00; A61K8/30; A61K31/02; A61K31/045; A61K31/12; A61K31/135; A61K31/185; A61K31/21; A61K31/35; A61K31/352; A61K31/375; A61K31/40; A61K31/403; A61K31/415; A61K31/445; A61K31/47; A61K31/555; A61K31/575; A61K31/59; A61K38/43; A61Q1/00; A61Q1/12; A61Q17/04; A61Q19/00; A61Q19/02; A61Q19/08; A61K38/43; (IPC1-7): A61K38/44; A61K7/48; A61K7/00; A61K7/42; A61K31/035; A61K31/07; A61K31/12; A61K31/135; A61K31/195; A61K31/22; A61K31/23; A61K31/35; A61K31/355; A61K31/375; A61K31/40; A61K31/405; A61K31/415; A61K31/445; A61K31/47; A61K31/555; A61K31/575; A61K31/59

- European:**Application number:** JP19940333581 19941216**Priority number(s):** JP19940333581 19941216; JP19930349055 19931228**Report a data error here****Abstract of JP7233046**

PURPOSE: To obtain an external preparation, containing a specific compound eliminating single oxygen, capable of preventing collagen from causing the cross-linkage-forming reaction, the instantaneous blackening from occurring, enzymes from being inactivated, etc., and thereby suppressing the aging and utilizable as cosmetics and medicines. **CONSTITUTION:** This external preparation is obtained by blending a compound such as alpha-glucosylrutin, hypotaurine, thiotaurine or phosphatidyl-choline having $\geq 1 \times 10^{-6}$ mol \cdot l $^{-1}$ sec $^{-1}$ rate constant of reaction with single oxygen in an amount of 0.0001-10% (preferably 0.001-1%) therein. Furthermore, the external preparation is preferably combined with an ultraviolet light absorber such as 4-t-butyl-4'-methoxydibenzoylmethane or sodium hydroxymethoxybenzophenonesulfonate.

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平7-233046

(43)公開日 平成7年(1995)9月5日

| | | | | |
|--------------------------|------|--------|-----|--------|
| (51)Int.Cl. ⁶ | 識別記号 | 庁内整理番号 | F I | 技術表示箇所 |
| A 6 1 K 7/48 | | | | |
| 7/00 | B | | | |
| | X | | | |
| | C | | | |

A 6 1 K 37/ 50

審査請求 未請求 請求項の数 3 F D (全 12 頁) 最終頁に続く

| | | | |
|-------------|------------------|---------|---|
| (21)出願番号 | 特願平6-333581 | (71)出願人 | 000145862 株式会社コーセー 東京都中央区日本橋3丁目6番2号 |
| (22)出願日 | 平成6年(1994)12月16日 | (72)発明者 | 亀山 久美 東京都豊島区上池袋4-11-9-512 |
| (31)優先権主張番号 | 特願平5-349055 | (72)発明者 | 増永 卓司 東京都中野区沼袋4-2-6-B号室 |
| (32)優先日 | 平5(1993)12月28日 | (72)発明者 | 笠 明美 千葉県我孫子市船戸3-2-2 |
| (33)優先権主張国 | 日本 (J P) | (74)代理人 | 弁理士 小野 信夫 |

(54)【発明の名称】 外用剤

(57)【要約】

【構成】 一重項酸素との反応速度定数が $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 以上である化合物を有効成分として含有する、コラーゲン架橋抑制剤、即時黒化抑制剤、酵素失活抑制剤または色素褪色防止剤から選ばれる外用剤。

【効果】 本発明の外用剤は、生体内で一重項酸素により引き起こされる各種の障害、例えばコラーゲンの架橋形成、ドーパの酸化により生じる即時黒化、生体内の種々の酵素の失活、色素の褪色等を抑制し、皮膚等の老化現象を防ぐことができるものであり、コラーゲン架橋抑制剤、即時黒化抑制剤、酵素失活抑制剤または色素褪色防止剤などとして、皮膚外用剤、化粧品等に有利に使用できるものである。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 一重項酸素との反応速度定数が $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 以上である化合物を有効成分として含有する、コラーゲン架橋抑制剤、即時黒化抑制剤、酵素失活抑制剤または色素褪色防止剤から選ばれる外用剤。

【請求項2】 更に紫外線吸収剤を含有する請求項第1項記載の外用剤。

【請求項3】 化粧品である請求項第1項または第2項記載の外用剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、外用剤に関し、更に詳しくは、コラーゲンの架橋形成反応や即時黒化、酵素不活性化等を防止し、ひいては老化を抑制し、化粧品や医薬として利用される外用剤に関する。

【0002】

【従来の技術】近年、活性酸素による様々な疾患が注目されており、老化にも活性酸素が、関与しているのではないと言われてきている。活性酸素には、スーパーオキサイド、ヒドロキシラジカル、過酸化水素および一重項酸素が含まれており、また、これらの金属や脂質との反応生成物も広義の活性酸素として知られている。

【0003】活性酸素が関与する様々な疾患を防ぐ目的で、種々の外用剤が研究されている。例えば、真皮構成成分であるコラーゲンは、皮膚の弾力性、柔軟性を担っているが、このコラーゲンに架橋が形成されると弾力性、柔軟性が低下し、皮膚の老化の一因であるとされており、このような現象を防ぐためのコラーゲン架橋抑制剤が検討されている。また、紫外線による黒化には、UV-Bによる遅延型黒化の他、UV-Aによる即時黒化の存在が知られており、このような黒化を防ぐための即時黒化抑制剤が検討されている。

【0004】更に、生体内反応を担っている数多くの酵素は、老化の進行と共に失活する割合が高くなり、その修復が困難になること知られており、これらの酵素の失活を防ぐための酵素失活抑制剤が検討されている。更にまた、化粧品等に含まれる植物エキスの色素の褪色あるいは変色は、化粧品の安定性上問題になることがあり、この原因は光、温度、pHとされているが、それだけではすべて説明がつかうだけでなく、色素の褪・変色を防止する薬剤が検討されている。

【0005】上記の、コラーゲン架橋形成、即時黒化、酵素失活および色素褪色等の現象には、活性酸素が関与していることは認められているものの、これらの実際の原因やその作用機序については知られておらず、これら各現象の防止に有効である化合物は、経験的に見出すしかないのが現実であった。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】従って、上記現象について、その作用機序を含め原因を探索し、これら現象を

防ぐことのできる外用剤の提供が求められていた。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記のコラーゲン架橋形成、即時黒化、酵素失活および色素褪色等に関し、どのような活性酸素が関与しているかを総合的に検討した結果、これらの現象は、いずれも活性酸素のうち、反応性が非常に高いが、寿命の極めて短く、生体、例えば皮膚に対する具体的な影響が知られていない一重項酸素が関与している可能性に着目した。

10 【0008】しかし、一重項酸素については、未だこれを正確に検出する方法がなく、この結果、一重項酸素と皮膚上の種々の現象の関係を正確に把握できず、ひいてはこれを消去する物質を正しく見出すことができないことに気付いた。

【0009】そこで、本発明者らはまず一重項酸素の検出方法について研究を行い、新しい一重項酸素検出装置を開発した。次いで、この検出装置により一重項酸素の作用および一重項酸素を消去する物質を検索したところ、生体内での活性酸素による障害とされ、ひいては老化につながる、真皮の主要成分であるコラーゲンの架橋形成、ドーパの酸化により非酵素的に起こる即時黒化、生体に必須の種々の酵素の失活等はやはり一重項酸素により引き起こされていること、および一重項酸素との反応定数が一定以上の化合物は、これらの障害を有効に抑制できることを見出し、本発明を完成した。

【0010】すなわち本発明は、一重項酸素との反応速度定数が $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 以上である化合物を有効成分として含有する、コラーゲン架橋抑制剤、即時黒化抑制剤、酵素失活抑制剤または色素褪色防止剤から選ばれる外用剤を提供するものである。

【0011】本発明において使用される一重項酸素との反応速度定数が $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 以上の化合物（以下、「一重項酸素消去化合物」という）は、本出願人らの開発した装置、すなわち、紫外線波長のレーザー照射によって光増感剤を励起し、発生した一重項酸素が出す近赤外発光を検出するという原理に基づく装置（特願平5-340377号）を利用することにより容易に選択することができる。

【0012】より詳しくいえば、光増感反応による一重項酸素の発生が知られている系に紫外線波長のレーザーを照射し、一重項酸素に特異的な近赤外部の微発光を測定し、次いで、同じ系に被検化合物を加えた時の発光を測定し、その近赤外部発光の減少から一重項酸素との反応速度定数を求め、これにより一重項酸素消去化合物をスクリーニングすることができる。

【0013】具体的な反応速度定数（ k_q ）の算出は、被検化合物（一重項酸素消去剤）の濃度（ C_q ）をX軸に、そのときの発光強度（ I ）に対する一重項酸素消去剤を加えてなかった時の発光強度（ I_0 ）の比（ I_0 / I ）をY軸にとり、これらの関係からStern-V

ormerの式、

$$I_0/I = 1 + k_q \cdot \tau \cdot C_q$$

により求めれば良い。この式において、 τ は一重項酸素の寿命であり溶媒によって異なる定数である。

【0014】この方法により見出された一重項酸素消去化合物の例としては、例えば次表に示すものが挙げられる。

【0015】

表 1

| 物質名 | 反応速度定数 ($M^{-1} s^{-1}$) |
|--------------------|-------------------------------|
| β -カロチン | 7.0×10^9 |
| α -グルコシルルチン | 6.1×10^9 |
| ルチン | 5.5×10^9 |
| ヒスチジン | 5.4×10^9 |
| キノリン | 1.0×10^9 |
| ドデシル硫酸ナトリウム | 1.0×10^9 |
| アジ化ナトリウム | 7.9×10^8 |
| α -トコフェロール | 7.1×10^8 |
| クロロフィルa | 7.0×10^8 |
| ドーバ | 6.8×10^8 |
| β -トコフェロール | 3.6×10^8 |
| トリプトファン | 2.5×10^8 |
| γ -トコフェロール | 1.9×10^8 |
| カテキン | $0.6 \sim 1.2 \times 10^8$ |
| ケルセチン | 1.1×10^8 |
| ケルセチン脂肪酸エステル | $5 \sim 8 \times 10^7$ |
| δ -トコフェロール | 7.1×10^7 |
| ハイドロキノン | 6.9×10^7 |
| ナフトール | $0.7 \sim 3.2 \times 10^7$ |
| ルミノール | 3.0×10^7 |
| チロシン | 2.7×10^7 |
| メチオニン | 2.2×10^7 |
| プロアントシアニジン | $1.0 \sim 2.1 \times 10^7$ |
| システイン | 1.8×10^7 |
| ビリルビン | 1.5×10^7 |
| エルゴステロール | 1.3×10^7 |
| アスコルビン酸 | 8.3×10^6 |
| レチノール | 7.3×10^6 |
| チオタウリン | $1.1 \sim 2.3 \times 10^6$ |
| ホスファチジルコリン | 2.1×10^6 |
| ヒポタウリン | $1.0 \sim 2.0 \times 10^6$ |
| スクワレン | 1.9×10^6 |
| ホスファチジルエタノールアミン | 1.6×10^6 |
| 酢酸トコフェロール | 1.6×10^6 |
| アントラセン | 7.4×10^5 |
| ピペリジン | 4.1×10^5 |
| ドコサヘキサエン酸 | 2.9×10^5 |
| リノール酸 | 2.2×10^5 |
| オリーブ油 | 1.5×10^5 |

| 5 | 6 |
|---------|-------------------|
| オレイン酸 | 1.3×10^5 |
| インデン | 6.7×10^4 |
| コレステロール | 6.6×10^4 |
| リモネン | 5.9×10^4 |
| 安息香酸 | 5.0×10^4 |
| マンニトール | 1.8×10^4 |

【0016】本発明の外用剤は、上記の様にし見出された一重項酸素消去化合物と公知の外用医薬用基剤または化粧品用基剤とを常法に従って組合せることにより製造される。

【0017】一重項酸素消去化合物の配合量は、外用剤の剤形、使用目的等の他、一重項酸素消去化合物の一重項酸素との反応強度によっても異なるが、一般には組成*

*中0.0001%~10% 好ましくは0.001%~1%程度とすれば良い。

10 【0018】具体的に、一重項酸素消去化合物と外用剤の用途による配合量範囲を次の表2および表3に例示する。

【0019】

表 2

| 化合物名 | 即時黒化抑制効果 | コラーゲン架橋抑制効果 | 酵素失活抑制効果 |
|-------------|----------|-------------|----------|
| α-グルコシルルチン | 0.01~0.1 | 0.1~1 | 0.1~1 |
| ドデシル硫酸ナトリウム | 0.01~0.1 | 0.01~0.1 | 0.01~0.1 |
| アジ化ナトリウム | 0.1~1 | 0.5~2 | 0.5~2 |
| ドーバ | — | 0.1~1 | 0.1~1 |
| アントシアニン | 0.1~1 | 0.1~1 | 0.1~1 |
| メチオニン | 1~5 | 1~5 | 1~5 |
| チロシン | 1~5 | 1~5 | 1~5 |
| システイン | 1~5 | 1~5 | 1~5 |
| ヒスチジン | 0.01~0.1 | 0.01~0.1 | 0.5~2 |
| トリプトファン | 0.05~0.2 | 0.05~0.2 | 0.5~2 |
| カテキン | 0.1~1 | 0.1~1 | 0.1~5 |
| ハイドロキノン | 1~5 | 1~5 | 1~5 |
| プロアントシアニジン | 1~5 | 1~5 | 1~5 |
| アスコルビン酸 | 1~5 | 1~5 | 1~5 |
| チオタウリン | 1~5 | 2~10 | 2~10 |
| ヒポタウリン | 1~5 | 2~10 | 2~10 |

(単位は重量%)

【0020】

表 3

| 化 合 物 名 | 色 素 褪 色 抑制効果 |
|---------------------|-----------------|
| β-カロチン | 0.01~0.1 |
| ルチン | 0.01~0.1 |
| キノリン | 0.01~0.1 |
| クロロフィルa | 0.01~0.2 |
| α-トコフェロール | 0.01~0.5 |
| β-トコフェロール | 0.01~0.5 |
| γ-トコフェロール | 0.01~0.5 |
| δ-トコフェロール | 0.01~0.5 |
| ケルセチン | 0.01~0.5 |
| ケルセチン脂肪酸エステル | 0.01~0.5 |
| ハイドロキノン | 0.05~5 |
| ナフトール | 0.05~5 |
| ルミノール | 0.05~5 |
| ピリルピン | 0.05~5 |
| エルゴステロール | 0.05~5 |
| レチノール | 0.1~5 |
| ホスファチジルコリン | 0.1~5 |
| スクワレン | 0.1~5 |
| ホスファチジル エタノールアミン | 0.1~5 |
| 酢酸トコフェロール | 0.1~5 |

(単位は重量%)

【0021】本発明の外用剤には、更に、必要に応じて通常の外用剤や化粧品に用いられる水性成分、粉末、
界面活性剤、油剤、保湿剤、アルコール類、pH調整
剤、防腐剤、色素、酸化防止剤、増粘剤、香料等を適宜
配合することができ、乳液、クリーム、化粧水、パッ
ク、軟膏、分散液、洗浄料等の剤形とすることができ
る。

【0022】本発明の外用剤は、紫外線吸収剤と組み合
わせることが好ましく、このような紫外線吸収剤の具体
例としては、パラメトキシケイ皮酸2-エチルエステ
ル、2-ヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノン、4
-t-ブチル-4'-メトキシジベンゾイルメタン、ヒ
ドロキシメトキシベンゾフェノンスルホン酸ナトリウム
等が挙げられる。このうち、特にUV-A領域に大き
な吸収を有するもの、例えば4-t-ブチル-4'-メ
トキシジベンゾイルメタン、ヒドロキシメトキシベン
ゾフェノンスルホン酸ナトリウム等が好ましい。

【0023】以上により得られる外用剤は、生体、特に
皮膚に発生する一重項酸素を有効に消去でき、コラーゲ
ン架橋抑制剤、即時黒化抑制剤、酵素失活抑制剤、色素
の褪色抑制剤等として利用される。

【0024】このうち、即時黒化抑制剤として使用する

場合は、一重項酸素消去化合物として、反応速度定数が
ドーパより大きいこと (6.8×10^8 以上であるこ
と) がより好ましいが、ドーパより反応速度定数が小さ
い化合物であっても、高濃度添加することにより同様な
効果を得ることができる。また、酵素の失活抑制剤と
して利用する場合は、その酵素の反応速度定数より一重
項酸素消去化合物の反応定数が大きいことがより好まし
い。

【0025】

【実施例】次に、試験例および実施例を挙げ、本発明を
更に詳しく説明するが、本発明はこれら試験例等になん
ら制約されるものではない。

【0026】試験例 1

一重項酸素の測定方法：

[測定装置] 一重項酸素の測定装置は、次のように構
成した。

(1) 光源部：コヒーレント (Coherent) 社製アルゴン
レーザー (Innova 70-4)

(2) 強度変調部：イントラ・アクション (IntraAction)
社製音響光学変調器 (ASM-702-8, ME-70)

(3) フローセル：石英製フローセル (セル長 3 m
m; 容量 0.18 ml)

【0027】(4) 循環用ポンプおよびバブリング装

置：岩城ガラス社製ペリスタルティクポンプ TST-100

高圧酸素ガスポンプ

(5) 可視光フィルター、分光器および検出器：色ガラスフィルター (IR-80)

日本分光社製分光器 (CT-10, スリット幅 2mm)

アプライド・デテクター (Applied Detector) 社製 Ge-ディテクター (Model 403 ES; 液体窒素冷却)

(6) 増幅器

EG & G プリンセトン・アプライド・リサーチ (EG & G Princeton Applied Research) 社製ロックインアンプ (Model 124A, 116)

【0028】〔測定方法〕測定試料としては、ヘマトポルフィリンの $20 \mu\text{M}$ 溶液を用いた。このヘマトポルフィリン溶液を、フローセル中、 20 ml/min の速度で循環させた。

【0029】このセルに、 $350 \sim 365 \text{ nm}$ の波長 (ヘマトポルフィリンの極大吸収波長) のレーザーを照射した。この照射により、生ずる近赤外領域の発光スペクトルを調べたところ、 1268 nm にピークがあることを確認した。このピークは、励起一重項酸素分子の遷移に対応するものである。

【0030】次いで、ヘマトポルフィリンの濃度を変化させ、 1268 nm の発光強度を調べたところ、低濃度ではほぼ直線上にのることが確認され、この発光はヘマトポルフィリンを光増感剤としたときに発生する一重項酸素によるものであることを確認した。

【0031】試験例 2

反応速度定数の測定試験：代表的な光増感剤であるローズベンガルと、消去化合物としての α -トコフェロールおよびキノリンのそれぞれのエタノール溶液を用いて反応速度定数の測定を行った。 $50 \mu\text{M}$ のローズベンガルと $0, 100, 200, 300, 400 \mu\text{M}$ の各 α -トコフェロール及びキノリンの混合溶液にレーザー光を照射し、 1268 nm における発光強度を測定した。

【0032】図 1 に示すように、横軸に消去化合物の濃度 (C_q)、縦軸に I_0/I (I_0 は消去化合物が 0 のときの発光強度、 I は消去化合物を添加したときの各濃度における発光強度) をとり、Stern-Volmer の式、

$$I_0/I = 1 + k_q \cdot \tau \cdot C_q$$

に従い、得られたグラフの傾きより k_q (反応速度定数) を求めた。なお、エタノール中での一重項酸素の寿命 (τ) は $10 \sim 12 \mu\text{sec}$ である。

【0033】試験例 3

光酸化による即時黒化の抑制試験：まず、 1 mM ドーパと $5 \mu\text{M}$ ヘマトポルフィリンの混液 (リン酸緩衝液; $\text{pH } 7.5$) をシャーレに取り、ソーラーシミュレーターにて $UV-A \ 5 \text{ mW/cm}^2$ を 10 分間照射し、ドーパから変化したドーパクロムの生成を 475 nm の吸光度を測定することにより求めた。次いで、上記混液に一重項酸素消去化合物を添加し、 $UV-A$ を照射したときのドーパクロムの生成を調べた。この結果を下表に示す。

【0034】

表 4

| 一重項酸素消去化合物 | 濃 度 | 475 nmの吸光度 |
|---|---------------------|------------|
| α -グルコシルルチン | 0.05% | 0.08 |
| α -グルコシルルチン + ヒドロキシベンゾフェノン スルホン酸ナトリウム | 0.05% + 0.01% | 0.06 |
| ヒスチジン | 0.05% | 0.1 |
| ドデシル硫酸ナトリウム + ヒドロキシベンゾフェノン スルホン酸ナトリウム | 0.1% + 0.01% | 0.13 |
| ドデシル硫酸ナトリウム | 0.1% | 0.17 |
| ヒポタウリン | 1% | 0.2 |
| マンニトール | 1% | 0.35 |
| 安息香酸 | 1% | 0.32 |
| な し (ブランク) | | 0.38 |

【0035】この結果から明らかなように、反応速度定数が $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ より大きい一重項酸素消去化合物は、ドーパクロムの生成を抑制することから、即時黒化を抑制し、有効な一重項酸素消去剤となりうる。なお、上記各化合物は紫外線吸収剤と組み合わせることで、一重項酸素の発生を抑え、更に即時黒化抑制効果が高くなる。

【0036】試験例 4

コラーゲンの架橋形成の抑制作用：約 1 mg/ml のI型コラーゲン $200 \mu\text{l}$ に $200 \mu\text{M}$ ヘマトポルフィリン $100 \mu\text{l}$ を加え、更に全量が 1 ml になるように5

0 mM Tris-HCl 緩衝液を加える。これをシャーレに取り、ソーラーシミュレーターにて $UV-A \ 2 \text{ mW/cm}^2$ を20分間照射する。この際、反応液は氷冷し、攪拌しておく。

【0037】 $UV-A$ 照射前後のサンプルをSDS-PAGEにて分離し、コラーゲンの α 、 β 、 γ 鎖の量の変化を見る。このコラーゲンの α 、 β および γ 鎖の変化量を、被検化合物（一重項酸素消去化合物）を添加した場合と添加しない場合で比較し、その作用を調べた。この結果を下表に示す。

【0038】

表 5

| 被検化合物 | 濃 度 | コラーゲンの変化程度 |
|--------------------|-------|----------------------------------|
| α -グルコシルルチン | 0.1 % | UV-A照射前と比べ変化なし |
| チオタウリン | 5 % | 同 上 |
| ヒポタウリン | 5 % | 同 上 |
| ドデシル硫酸ナトリウム | 0.1 % | 同 上 |
| カテキン | 0.1 % | 同 上 |
| アジ化ナトリウム | 0.5 % | 同 上 |
| マンニトール | 1 % | 高分子側の γ 鎖バンドが増え、架橋形成が示された |
| 安息香酸 | 1 % | 同 上 |
| なし (ブランク) | | 同 上 |

【0039】この結果から明かなように、一重項酸素消去化合物を添加した場合、コラーゲンの架橋形成が抑制されることが示された。

【0040】試験例 5

酵素の失活の抑制：0.5mg/mlチロシナーゼ溶液3mlに、200 μ Mのヘマトポルフィリンを300 μ l加え、UV-Aを一定時間照射した後、この酵素溶液0.1mlに3.9mlのリン酸緩衝液(pH 6.8)を加える。

【0041】次いで、10mMのドーパ1mlを基質*

表 6

| 被検化合物 | 濃 度 | 残存活性 (%) |
|--------------------|-------|----------|
| アジ化ナトリウム | 0.5 % | 98 |
| α -グルコシルルチン | 0.1 % | 98 |
| トリプトファン | 1 % | 97 |
| チオタウリン | 5 % | 82 |
| ヒポタウリン | 5 % | 85 |
| マンニトール | 1 % | 45 |
| 安息香酸 | 1 % | 39 |
| なし (ブランク) | | 38 |

【0043】この結果から明かなように、一重項酸素との反応定数が $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ より大きいものが当該酵素の失活を抑制できる。

【0044】試験例 6

色素褪色抑制効果：ローズベンガル0.01%とオレンジII0.01%の色素混合液をF1ボックスに2週間入れた後、オレンジIIの最大吸収を示す48

*とし、37℃で10分間に生成するドーパクロムの量を475nmの吸光度で測定し、UV-Aを照射しないものを対照として生成するドーパクロム量の低下からチロシナーゼ活性の低下を確認した。一方、被検化合物(一重項酸素消去剤)を加えてUV-Aを照射した場合のチロシナーゼ活性を測定し、消去剤によるチロシナーゼ失活の抑制効果を調べた。この結果を、次表に示す。

【0042】

4nmの吸光度を測定し、オレンジIIの褪色度を求めた。次いで、同様な色素混合液に被検化合物(一重項酸素消去化合物)を添加し、この場合の褪色度を比較し、被検化合物の色素褪色抑制効果を調べた。この結果を次の表に示す。

【0045】なお、色素褪色抑制効果は、次の式から求めた。

$$\text{褪色抑制率} = \frac{\text{試験後の484nmの吸光度}}{\text{試験前の484nmの吸光度}} \times 100$$

【0046】

表 7

| 被検化合物 | 濃 度 | 褪色抑制率 (%) |
|--------------------|------|-----------|
| α -トコフェロール | 0.1% | 65 |
| スクワレン | 0.1% | 60 |
| コレステロール | 0.1% | 12 |
| α -グルコシルルチン | 0.1% | 91 |
| レチノール | 0.1% | 63 |
| キノリン | 0.1% | 85 |
| リノール酸 | 0.1% | 20 |
| オリーブ油 | 0.1% | 5 |
| な し (ブランク) | | 3 |

【0047】この結果から明かなように、光によりローズベンガルが発生する一重項酸素によるオレンジIIの褪色は、反応速度定数が $1.0 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 以上であれば防止することができる。

【0048】また、オレンジII等のアゾ色素の褐色を防ぐことができるほか、ブドウ果皮色素、ベリー類色素等のフラボノイド系色素；ケルメス色素、アリザリン色素*

*等のキノン系色素；ビートレッド等のベタシアニン系色素；リボフラビン等のフラビン色素などの天然色素の褪色、変色防止にも有効であることがわかった。

【0049】実施例 1

ゲル軟膏：下記の処方のゲル軟膏を常法により製造した。

| (組 成) | (重量部) |
|--------------------|-------|
| カルボキシビニルポリマー | 1.0 |
| トリエタノールアミン | 1.0 |
| 1,3-ブチレングリコール | 10.0 |
| α -グルコシルルチン | 0.01 |
| 精製水 | 残 量 |
| 合 計 | 100.0 |

【0050】実施例 2

ファンデーション：下記の処方のファンデーションを

常法により製造した。

| (組 成) | (重量部) |
|--------------------------|-------|
| タルク | 残 量 |
| マイカ | 40.0 |
| 酸化チタン | 10.0 |
| 雲母チタン | 1.0 |
| ベンガラ | 1.0 |
| 黄酸化鉄 | 1.8 |
| 流動パラフィン | 4.0 |
| スクワラン | 5.0 |
| メチルポリシロキサン | 4.0 |
| α -グルコシルルチン | 0.01 |
| パラメトキシケイ皮酸 2-エチル ヘキシル | 0.1 |
| ヒドロキシメトキシベンゾフェノン | 0.1 |
| 防 腐 剤 | 0.2 |

17

18

香 料

0.1

合 計

100.0

【0051】実施例 3

* *乳 液 : 下記の処方の乳液を常法により製造した。

(組 成)

(重量部)

スクワラン

5.0

ワセリン

2.0

ミツロウ

0.5

ソルビタンセスキオレイン酸エーテル

0.4

ポリオキシエチレンオレイルエーテル

1.2

(20 E.O.)

1,3-ブチレングリコール

5.0

 α -グルコシルルチン

0.1

SOD

0.001

エチルアルコール

5.0

防 腐 剤

0.2

香 料

0.1

キサンタンガム (20%水溶液)

20.0

精 製 水

残 量

全 量

100.0

【0052】実施例 4

※た。

化 粧 水 : 下記の処方の化粧水を常法により製造し※

(組 成)

(重量部)

グリセリン

5.0

1,3-ブチレングリコール

6.5

ポリオキシエチレンソルビタン

1.2

モノラウリン酸エステル (20 E.O.)

1.2

エチルアルコール

8.0

ヒポタウリン

1.0

防 腐 剤

0.2

香 料

0.1

精 製 水

残 量

全 量

100.0

【0053】実施例 5

た。

洗 浄 剤 : 下記の処方の洗浄剤を常法により製造し

(組 成)

(重量部)

ステアリン酸

10.0

パルミチン酸

8.0

ミリスチン酸

12.0

ラウリン酸

4.0

オレイルアルコール

1.5

精製ラノリン

1.0

香 料

0.1

防 腐 剤

0.2

グリセリン

18.0

水酸化カルシウム

6.0

チオタウリン

1.0

精 製 水

残 量

全 量 100.0

【0054】実施例 6

*た。

クリーム：下記の処方のクリームを常法により製造し*

| (組 成) | (重量部) |
|---------------------|-------|
| ミツロウ | 6.0 |
| セタノール | 5.0 |
| 還元ラノリン | 5.0 |
| スクワラン | 30.0 |
| グリセリンモノステアレート | 4.0 |
| ポリオキシエチレンソルビタン | |
| モノラウリン酸エステル(20E.O.) | 2.0 |
| ホスファチジルコリン | 0.5 |
| ホスファチジルエタノールアミン | 0.5 |
| 防腐剤 | 0.3 |
| 香料 | 0.1 |
| 精製水 | 残量 |

全 量 100.0

【0055】以上の実施例1のゲル軟膏および実施例2～6の化粧品は一重項酸素消去効果があり、即時黒化が抑制され、老化予防に効果的なものである。特に実施例3の化粧品においてはSODとの併用により紅斑抑制が認められ、抗炎症効果も有していた。

【0056】

【発明の効果】本発明の外用剤は、生体内で一重項酸素により引き起こされる各種の障害、例えばコラーゲンの架橋形成、ドーパの酸化により生じる即時黒化、生体内

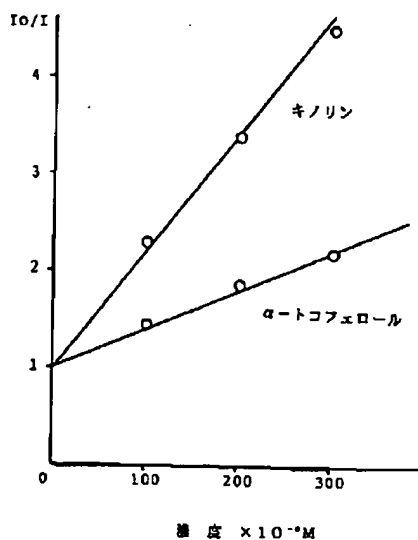
の種々の酵素の失活、色素の褪色等を抑制し、皮膚等の老化現象を防ぐことができるものである。従って、本発明の外用剤は、コラーゲン架橋抑制剤、即時黒化抑制剤、酵素失活抑制剤または色素褪色防止剤などとして、皮膚外用剤、化粧品等に有利に使用できるものである。

【図面の簡単な説明】

【図1】一重項酸素との反応速度定数を求めるためのグラフを示す図面。

以 上

【図1】



フロントページの続き

| (51)Int. Cl. ⁶ | 識別記号 | 序内整理番号 | F I | 技術表示箇所 |
|---------------------------|------|---------|-----|--------|
| A 6 1 K 7/00 | D | | | |
| | F | | | |
| | H | | | |
| 7/42 | | | | |
| 31/035 | | 9454-4C | | |
| 31/07 | | 9454-4C | | |
| 31/12 | | 9454-4C | | |
| 31/135 | | 9454-4C | | |
| 31/195 | | 9454-4C | | |
| 31/22 | | 9454-4C | | |
| 31/23 | | 9454-4C | | |
| 31/35 | | | | |
| 31/355 | | | | |
| 31/375 | | | | |
| 31/40 | | | | |
| 31/405 | | | | |
| 31/415 | | | | |
| 31/445 | | | | |
| 31/47 | | | | |
| 31/555 | | | | |
| 31/575 | | | | |
| 31/59 | | | | |
| // A 6 1 K 38/44 | | | | |